



⑬ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 195 41 284 A 1**

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**A 61 K 38/17**

②① Aktenzeichen: 195 41 284.2  
②② Anmeldetag: 6. 11. 95  
②③ Offenlegungstag: 30. 5. 96

DE 195 41 284 A 1

Mit Einverständnis des Anmelders offengelegte Anmeldung gemäß § 31 Abs. 2 Ziffer 1 PatG

⑦① Anmelder:

Kalden, Joachim Robert, Prof. Dr., 91054 Erlangen,  
DE

⑦② Erfinder:

Herrmann, Martin, 91077 Neunkirchen, DE; Voll,  
Reinhard, 91052 Erlangen, DE; Kalden, Joachim  
Robert, 91054 Erlangen, DE; Bertling, Wolf  
Maximilian, 91056 Erlangen, DE; Mark, Klaus, von  
dern, 91334 Hemhofen, DE

Rechercheantrag gem. § 43 Abs. 1 Satz 1 PatG ist gestellt  
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Verfahren zur Immunmodulation

⑤⑦ Die beschriebenen Immunmodulatoren beeinflussen die Immunantwort durch Aktivierung bzw. Inhibition von Lymphozyten bzw. anderen Blutzellen. Bisher sind noch keine Modulatoren des phosphatidylserinabhängigen Phagozytosewegs bekannt.

Bei diesen Verfahren werden bevorzugterweise entweder biochemisch isolierte oder rekombinant hergestellte Annexine, bevorzugt Annexin V, bzw. Antikörper gegen diese Annexine dazu verwendet, den nichtinflammatorischen phosphatidylserinabhängigen Phagozytoseweg zu beeinflussen, um so die inflammatorische Immunantwort zu modulieren (Immunmodulation). Diese Beeinflussung kann durch Maßnahmen wie Blockierung oder Entblockierung des nichtinflammatorischen Phagozytosewegs erfolgen. Das Verfahren eignet sich um die Immunantwort in Mensch und Tiere zu modulieren.

DE 195 41 284 A 1

## Stand der Technik

Annexine bilden eine hochkonservierte Familie zellulärer Proteine, die von höheren Pflanzen, über Wirbellose, Fische und Vögel bis hin zu den Säugetieren gefunden werden (Nomenklatur: Crumpton MJ and Dedman JR 1990 Protein terminology tangle. *Nature* 345: 212). Die zytoplasmamembran-assoziierten Proteine besitzen entweder ein niedrigeres (32 kD bis 38 kD) oder aber ein höheres (ca. 67 kD) Molekulargewicht und Affinität zu  $\text{Ca}^{++}$  und Phospholipiden. Die hochkonservierte Core-Struktur besteht aus vier oder acht Wiederholungen von je 70 Aminosäuren, die jeweils einen Endonexinbereich mit 17 Aminosäuren enthalten, die an der  $\text{Ca}^{++}$ -Bindung beteiligt sind. Andererseits werden in den aminoterminalen Regionen der unterschiedlichen Annexine keine signifikanten Ähnlichkeiten gefunden, was zu der Spekulation geführt hat, daß diese Domäne für die unterschiedlichen Funktionen der Annexine verantwortlich ist. Obwohl für Annexine eine Vielzahl von Funktionen postuliert wurden, wie z. B. die Inhibition der Phospholipase  $\text{A}_2$  und der Blutgerinnung, sowie eine mögliche Beteiligung an Signaltransduktion, Zellwachstum und Differenzierung, konnte bisher keine eindeutige biologische Rolle für die Annexine etabliert werden (Morgan MO und Fernandez MP 1991 Annexins and signal transduction. In Bailey JM (ed): "Advances in Prostaglandine, Leukotrien, Lipoxin and PAF Research." New York: Plenum Press: 107–122).

Die Röntgenstrukturanalyse der Annexine (Typ V) aus Mensch, Huhn und Ratte ergab, daß Annexin V ein kanalbildendes integrales Membranprotein ist (Huber R, Römisch J, Paques E 1990 The crystal and molecular structure of human Annexin V, an anticoagulant protein that binds to calcium and membranes. *The EMBO Journal* 9: 3867–3874). Das Protein wird in Zytoplasma und Kern gefunden. Obwohl es nur partiell in der Innenseite in die Zytoplasmamembran integriert ist, konnte eine spannungsabhängige Kalziumkanalaktivität nachgewiesen werden. Außerdem wird Annexin V auch auf der Oberfläche von Chondrozyten gefunden, wo es an der Knorpelkalzifizierung beteiligt ist (Pfäffle M, Ruggiero F, Hofmann H, Fernandez MP, Selmin O, Yamada Y, Garrone R und von der Mark K 1988 Biosynthesis, secretion and extracellular localization of anchorin CII, a collagen-binding protein of the calpactin family. *The EMBO Journal* 7/8, 2335–2342).

Phosphatidylserin ist ein negativ geladenes Phospholipid, das sich bei allen Zellen an der Innenseite der Zytoplasmamembran befindet. Gelegentlich kann jedoch ein Phosphatidylserinmolekül durch die Membran schwingen und somit auf die Außenseite der Zytoplasmamembran gelangen. Bei lebenden, gesunden Zellen wird auf die Außenseite gelanges Phosphatidylserin sofort enzymatisch auf die Innenseite der Zytoplasmamembran zurücktransportiert. Bei alten und bei Plasmodium falsiparum infizierten Erythrozyten, bei Sichelzellen, postinflammatorischen Granulozyten sowie bei apoptotischen Zellen bleibt das Phosphatidylserin jedoch auf der Außenseite. Ab einer bestimmten Phosphatidylserindichte binden die Zellen über den "Phosphatidylserinrezeptor" an Phagozyten. Steigt die Phosphatidylserindichte weiter an und erreicht dabei einen bestimmten Schwellenwert, werden die Zellen extrem schnell phagozytiert (Engulfmentphagozytose).

Bei diesem Vorgang kommt es weder zum Freisetzen von Zellinhaltsstoffen noch zu einer Aktivierung des Immunsystems. Aus diesem Grund wird dieser Phagozytoseweg "nichtinflammatorisch" genannt.

Bei der Beseitigung gealterter Zellen, z. B. alter Erythrozyten und apoptotischer Zellen, wie z. B. postinflammatorischer Granulozyten ist eine spezifische Immunsuppression durchaus sinnvoll und erwünscht, da in diesen Fällen eine inflammatorische Phagozytose sogar zu Autoimmunphänomenen führen könnte. Die nichtinflammatorische Phagozytose von Plasmodium falsiparum infizierten Erythrozyten ist jedoch unter anderem für die ausgesprochen schlechte Immunantwort und die schwierige Immunisierung gegen Malaria verantwortlich. Keine bisher beschriebene Maßnahme oder Vorbeugung gegen Malaria berücksichtigt den Umstand, daß Plasmodium falsiparum infizierten Erythrozyten über den phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytoseweg phagozytiert werden. Medikamente, die diesen Phagozytoseweg beeinflussen sind bisher unbekannt.

Ähnlich verhält es sich bei Virusinfektionen. Viren, die über phosphatidylserinabhängige Phagozytose aus apoptotischen Zellen in Phagozyten aufgenommen werden, können so der Immunüberwachung entgehen. So ist z. B. die Aufnahme von HIV in Monozyten, die ohne Auslösung des "respiratory bursts" vonstatten geht, für das frühe und vom Immunsystem unbemerkte Eindringen des HIV in den langlebigen Monozyten-Pool verantwortlich. Diese bisher unverstandene Infektion der Monozyten/Makrophagen wird für die Persistenz des HIV und somit für die Ausbildung des AIDS-Krankheitsbildes ursächlich verantwortlich gemacht. Obwohl der Infektionsweg von Monozyten/Makrophagen mit HIV bisher molekular noch nicht eindeutig identifiziert ist, ist eine Beteiligung von Phosphatidylserin und Phosphatidylserinrezeptor wegen der nichtinflammatorischen Phagozytose wahrscheinlich. So konnte z. B. gezeigt werden, daß Retrovirusgenome aus apoptotischem Debris in Zellen aufgenommen werden können und so diese Zellen infizieren. Da HIV in den Monozyten sehr lange überleben kann und, eventuell erst Jahre nach der Infektion, spontan freigesetzt wird, kann das menschliche Immunsystem das HIV nicht völlig aus dem Körper eliminieren. Da das HIV bei jeder Freisetzung das Immunsystem etwas schädigt, indem es die CD 4 positiven T-Zellen zerstört, kann sich so im Laufe meist mehrerer Jahre das Vollbild des AIDS ausbilden. Ähnliche Probleme existieren auch bei der Eliminierung von anderen in Phagozyten persistierenden bzw. sich vermehrenden Viren. Hier sind vor allem weitere Retroviren und besonders die Untergruppe der Lentiviren zu nennen. Einige dieser Viren (EIAV, Meadi Visna Virus, CAEV) persistieren in den Phagozyten von Huftieren und führen dort zu Autoimmunkrankheiten. Keine bisher beschriebene Maßnahme oder Vorbeugung gegen HIV Infektion, bzw. der Infektion mit anderen, in Phagozyten überlebenden Viren berücksichtigt den Umstand, daß apoptotische Zellen über den phosphatidylserinabhängigen Weg phagozytiert werden können. Medikamente, die diesen Phagozytoseweg blockieren sind bisher unbekannt.

Anders stellt sich die Situation bei Patienten mit Sichelzellanämie dar. Durch die ständige und extrem schnelle Phagozytose autologer, genetisch veränderter Erythrozyten kommt es bei den Patienten zu einer Anämie, die unbehandelt in schweren Fällen zum Tod führen kann. Hier steht weniger die Tatsache im Vorder-

grund, daß die phosphatidylserinvermittelte Phagozytose nichtinflammatorisch verläuft, als vielmehr der Umstand, daß sie extrem schnell und effizient Phosphatidylserin tragende Zellen beseitigt. Da es bisher keine Medikamente gibt, die diesen Phagozytoseweg blockieren wird die Sichelzellanämie bisher mit wiederholten Bluttransfusionen behandelt.

Ein ähnliches Problem wie bei der Sichelzellanämie ergibt sich auch beim Lagern von Erythrozyten zur Transfusion. Auch bei Lagerung unter Blutbankbedingungen exprimiert eine zunehmende Anzahl Erythrozyten Phosphatidylserin auf ihrer Oberfläche. Dies führt nach der Transfusion dazu, daß diese Erythrozyten sehr schnell von Phagozyten abgeräumt und so wirkungslos werden. Da es bisher keine Zusätze zu Blutkonserven gibt, die diese Phagozytose verhindern, ist die Lagerung von Erythrozyten zeitlich strikt limitiert.

Bei der Herstellung von Tumorzellen werden die in den Körper der Patienten bzw. Versuchstiere zurückgegebenen Tumorzellen bestrahlt, um eine weitere Verbreitung des Tumors zu verhindern. Da unter diesen Umständen in den Tumorzellen Apoptose induziert wird, und diese dann nichtinflammatorisch über den phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytoseweg beseitigt werden, kommt es meist zu einer relativ schwachen Immunantwort gegen die jeweilige Tumorzelle. Da bisher keine Substanzen bekannt sind, die den phosphatidylserinabhängigen Phagozytoseweg blockieren, werden bisher klassische Immunisierungswege und Adjuvantien verwendet, um die Immunantwort gegen Tumorzellen zu steigern.

#### Kritik am Stand der Technik

Alle beschriebenen Techniken, Verfahren und Gegenstände zu diesen Verfahren zeigen Nachteile, die ihre Anwendung limitieren. Alle heutzutage eingesetzten Adjuvantien stimulieren zwar das Immunsystem unspezifisch, bisher ist aber noch kein Agens beschrieben, das die Engulfmentphagozytose von Phosphatidylserin tragenden Zellen verhindert und so zu einer spezifischen Immunstimulation führt. Besonders hervorzuheben sind die Nachteile, die bei nichtinflammatorischem Abräumen von Impfstoffen und Viren entstehen. Einerseits führt das zum wirkungslosen Abbau von Impfstoffen andererseits zur Viruspersistenz.

Auch für die Lagerung von Blut und Erythrozyten sind noch keine Zusätze erhältlich, die den Abbau der Spendererythrozyten durch die Empfängerphagozyten nach der Transfusion verhindern, indem sie die Präsentation von Phosphatidylserin auf der Außenseite der Zellen inhibieren. Dies führt bislang zu einer relativ kurzen Lagerungsfähigkeit von Blutkonserven und Erythrozytenkonzentraten, bzw. zu einem deutlichen Verlust an Wirksamkeit bei länger gelagerten Konserven.

Da bei der Sichelzellanämie bereits junge Erythrozyten Phosphatidylserin auf ihrer Oberfläche tragen, werden sie von den körpereigenen Phagozyten entfernt. Dieser Umstand trägt dabei nicht unerheblich zur Anämie der Patienten bei. Für die Behandlung dieser Erkrankung sind noch keine Medikamente erhältlich, die den Abbau der eigenen Erythrozyten wirkungsvoll verhindern.

#### Lösung

Diese Probleme werden durch die Blockierung bzw. Deblockierung der phosphatidylserinabhängigen En-

gulfmentphagozytose gelöst.

#### Erreichte Vorteile

Die vorliegende Erfindung verspricht, diese Nachteile aufzuheben, bzw. zu bessern. Es handelt sich dabei um Verfahren und Gegenstände zur Verwendung in diesen Verfahren zur Modulierung der phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytose durch Annexine, bevorzugterweise durch Annexin V, bzw. der Stimulation der nichtinflammatorischen Phagozytose z. B. durch Entfernen bzw. Blockade von Annexinen, insbesondere Annexin V.

Besondere Bedeutung ist der Anwendung im Human- bzw. Tiermedizinischen Bereich zuzumessen, wo in vielen etablierten, aber auch in experimentellen Therapieformen eine Immunmodulation erwünscht ist. So ist in der Behandlung von Tumorerkrankungen und von Virusinfektionen oft eine Immunstimulation erwünscht, wohingegen bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und bei Autoimmunerkrankungen eher eine Immunsuppression erwünscht ist.

Ein wichtiges Einsatzgebiet für die Blockade der nichtinflammatorischen phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytose ergibt sich aus der daraus resultierende spezifischen Adjuvanswirkung. Phosphatidylserin tragende Zellen werden nach Blockade des nichtinflammatorischen phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytosewegs über einen inflammatorischen Alternativweg phagozytiert, was mit einer massiv erhöhten Immunantwort einhergeht. Für diese "Adjuvans"-Wirkung ergeben sich die unterschiedlichsten Anwendungsgebiete, z. B. in der Humanmedizin. Zum einen kann dadurch die Immunogenität von Tumorzellen gesteigert werden, wenn diese aus bestrahlten, und somit größtenteils apoptotischen Tumorzellen bestehen. Weiterhin ist es möglich eine Immunantwort gegen solche Tumorzellen zu erzielen, die aus therapeutischen Gründen radioaktiv bestrahlt werden. In diesem Fall würde eine tumorspezifische Immunantwort bei der Beseitigung der Resttumormasse den Therapieerfolg steigern. Ein ähnlicher Effekt kann auch parallel zu einer Zytostatikatherapie mit apoptoseinduzierenden Agentien, wie z. B. Cisplatin und Hydroxy-Harnstoff zu einer massiven tumorspezifischen Immunstimulation führen. Auch bei der Behandlung von Infektionen mit Viren, die in Phagozyten persistieren, führt die Blockierung des phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytosewegs zu einer spezifischen Immunstimulation. Als besonders wichtiges Beispiel in diesem Zusammenhang muß die Behandlung der Infektionen mit Lentiviren und HIV angesehen werden. Ein von der Zelle "unbemerktes" phosphatidylserinabhängiges Eindringen der Viren führt zur Viruspersistenz im langlebigen Monozyten/Makrophagen-Pool. Die Viruspersistenz führt bei den allermeisten Infizierten nach einer mehr oder minder langen Latenzzeit zum Tode. Annexine bevorzugt Annexin V sind für die Behandlung von HIV-Infizierten geeignet, da inflammatorisch phagozytiertes apoptotisches Material in den Phagozyten einen "respiratory burst" auslöst, und so zur Zerstörung der Virengnome führt.

Weiterhin können durch die Blockierung der phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytose unerwünschte Zellverluste in vivo und in vitro vermieden werden. Dies ist sowohl bei der Lagerung von erythrozytenhaltigen Blutkonserven als auch als Medikament für Patienten mit Sichelzellanämie von großer Be-

deutung.

### Beispiele

#### 1. Einsatz von Annexinen bevorzugt Annexin V als Adjuvantien für Tumorstoffen

Bei vielen Ansätze der Produktion von Tumorstoffen aus vom Patienten isolierten Tumorzellen, werden diese vor der Reinjektion in den Patienten bzw. das Versuchstier radioaktiv bestrahlt um ein Anwachsen zu verhindern. Während der dabei induzierten Apoptose wird auf der Oberfläche der Tumorzellen Phosphatidylserin exprimiert, was zu einer schwachen Immunogenität der Vakzine führt. Direkt vor der Injektion werden die bestrahlten Tumorzellen ex corpore mit Annexinen bevorzugt Annexin V inkubiert um die phosphatidylserinabhängige Engulfmentphagozytose im Patienten bzw. Versuchstier zu blockieren. Zusätzlich wird an die Stelle der Injektion ein Annexin bevorzugt Annexin V Bolus gesetzt, um die Wirkung lokal weiter zu verstärken.

#### 2. Einsatz von Annexinen bevorzugt Annexin V als Immunstimulans während Chemo- und Strahlentherapie

Bei der therapeutischen radioaktiven Tumorbestrahlung sowie bei der Behandlung mit Zytostatika wird in corpore in einer Vielzahl von Tumorzellen Apoptose induziert. Um ein nichtinflammatorisches Abräumen der toten Zellen zu verhindern und die damit verbundene schwache Immunantwort zu verstärken werden vor oder unmittelbar nach der Strahlen- bzw. Chemotherapie Annexine bevorzugt Annexin V in den Tumor injiziert. Dadurch erfolgt das Abräumen der toten Tumorzellen über einen inflammatorischen Phagozytoseweg und führt so zu einer verstärkten Immunantwort gegen den Resttumor.

#### 3. Lagerung von Vollblut und Erythrozytenpräparaten

Zu Vollblut bzw. Erythrozytenkonzentraten werden Annexine bevorzugt Annexin V zugefügt, um nach der Transfusion den Abbau der Phosphatidylserin tragenden Erythrozyten zu verlangsamen und so die Wirksamkeit der Transfusion zu erhöhen. Die Annexine bevorzugt das Annexin V können in diesem Fall entweder direkt nach der Blutabnahme oder aber auch erst vor der Transfusion zugegeben werden.

#### 4. Einsatz von Annexinen, bevorzugt Annexin V bei Patienten mit Sichelzellanämie

##### 4.a klassische Lösung mit Annexin bevorzugt Annexin V Infusionen

Um die Phagozytose der Sichelzellen zu verhindern, die bei diesem Krankheitsbild entscheidend zur Anämie beitragen, werden sehr stark anämischen Patienten Annexine bevorzugt Annexin V Lösung intravenös verabreicht.

##### 4.b Einsatz von Annexinen, bevorzugt Annexin V im transient gentherapeutischen Ansatz mit RNA-Virus abgeleiteten Vektoren

In diesem Ansatz wird ein Fusionsprotein aus Annexi-

nen bevorzugt Annexin V mit einem Leaderpeptid mit Hilfe eines transienten RNA-Vektorsystems (z. B. einem vom Poliovirus abgeleiteten System) in Blutzellen, z. B. Monozyten zur Expression gebracht. Auf diese Weise blockiert diese transiente in situ Produktion über einen längeren Zeitraum als eine Infusion die Phagozytose der Sichelzellen. Da RNA-abhängige Expressionssysteme sich weder in die genomische DNA der Wirtszellen integrieren, noch vertikal verbreiten, ist die Expression der Annexine nur transient, was die Risiken der Auslösung einer Autoimmunopathie minimiert.

5. Auch bei der Behandlung von Infektionen mit Viren die in Phagozyten persistieren führt die Blockierung des phosphatidylserinabhängigen Engulfmentphagozytosewegs zu einer spezifischen Immunstimulation. Als besonders wichtiges Beispiel in diesem Zusammenhang muß die Behandlung der Infektionen mit Lentiviren und HIV angesehen werden. Ein von der Zelle "unbemerktes" Eindringen der Viren führt zur Viruspersistenz im langlebigen Monozyten/Makrophagen-Pool, und bei den allermeisten Infizierten nach einer mehr oder minder langen Latenzzeit zum Tode. Annexine bevorzugt Annexin V sind für die Behandlung von HIV geeignet, da inflammatorisch phagozytiertes apoptotisches Material in den Phagozyten einen "respiratory burst" auslöst, und so zur Zerstörung der Vireng Genome führt.

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Beeinflussung der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose, dadurch gekennzeichnet, daß der Annexinspiegel verändert wird und oder die Verteilung von Annexinen verändert wird und oder oder die Wirkorte und oder oder Wirkpartner modifiziert werden.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Beeinflussung der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose durch Blockade der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose bewirkt wird.

3. Verfahren gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein Annexin, bevorzugt Annexin V zur Blockade der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose eingesetzt wird.

4. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Beeinflussung der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose durch Stimulation der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose bewirkt wird.

5. Verfahren gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Stimulation der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose durch Anti-Annexin V Antikörper bewirkt wird.

6. Verfahren gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Stimulation durch Blockade und oder Verhüllung und oder oder Maskierung von extrazellulär membranständig lokalisiertem Phosphatidylserin bewirkt wird.

7. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Beeinflussung der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose durch Veränderung der Verteilung von Annexinen bewirkt wird.

8. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Beeinflussung der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose durch Veränderung der Verteilung von Phosphatidylserin bewirkt wird.

9. Verfahren gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Beeinflussung zu einer Stimula-

tion der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose führt.

10. Verfahren gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Beeinflussung zu einer Blockade der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose 5 führt.

11. Verfahren gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V als Modulatoren einer Immunantwort eingesetzt werden. 10

12. Verfahren gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V zum Maskieren von Phosphatidylserin eingesetzt werden.

13. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V als Adjuvantien in der Tumorthherapie eingesetzt werden. 15

14. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V als Adjuvantien für Tumorstoffen eingesetzt werden. 20

15. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V als Adjuvantien in der Virustherapie eingesetzt werden. 25

16. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V in der Behandlung von Retrovirusinfektionen eingesetzt werden. 30

17. Verfahren gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V in der Behandlung von Lentivirusinfektionen eingesetzt werden.

18. Verfahren gemäß Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V in der Behandlung der HIV-Infektion eingesetzt werden. 35

19. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V in der Behandlung der Sichelzellanämie eingesetzt werden. 40

20. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V in der Behandlung der Malaria eingesetzt werden. 45

21. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß Annexine bevorzugt Annexin V in der Malariaimmunisierung eingesetzt werden.

22. Gegenstand zur Beeinflussung der phosphatidylserinabhängigen Phagozytose, dadurch gekennzeichnet, daß der Annexinspiegel verändert und oder oder die Verteilung von Annexinen verändert wird und oder oder die Wirkorte und oder oder Wirkpartner modifiziert werden. 50

23. Gegenstand gemäß Anspruch 22 zur Durchführung von einem oder mehreren der Ansprüche 1—21. 55

- Leerseite -

DERWENT- 1996-260875

ACC-NO:

DERWENT- 200379

WEEK:

*COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD*

**TITLE:** Immuno-modulation by control of phosphatidyl-serine dependent phagocytosis - by changing level or distribution of annexin, used e.g. in treatment of tumours and viral infections

**INVENTOR:** BERTLING, W M; HERRMANN, M ; KALDEN, J R ; VOLL, R ; VON DERN MARK, K ; MARK, K ; ZOLLER, O ; VON DER MARK, K

**PATENT-ASSIGNEE:** KALDEN J R[KALDI]

**PRIORITY-DATA:** 1995DE-1041284 (November 6, 1995)

**PATENT-FAMILY:**

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
EP 1356818 A2	October 29, 2003	G	000	A61K 038/17
DE 19541284 A1	May 30, 1996	N/A	005	A61K 038/17
WO 9717084 A1	May 15, 1997	G	019	A61K 038/17
EP 859628 A1	August 26, 1998	G	000	A61K 038/17
DE 19541284 C2	September 24, 1998	N/A	000	A61K 038/17
JP 2000500124 W	January 11, 2000	N/A	016	A61K 038/00
EP 859628 B1	July 30, 2003	G	000	A61K 038/17
DE 59610633 G	September 4, 2003	N/A	000	A61K 038/17

**DESIGNATED-STATES:** AT CH DE DK ES FI FR GB GR IT LI SE CA JP US AT BE CH  
DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE AT CH DE DK  
ES FI FR GB GR IT LI SE AT CH DE DK ES FI FR GB GR IT  
LI SE

**CITED-DOCUMENTS:** DE 19541284; WO 9306230 ; WO 9311222

**APPLICATION-DATA:**

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
EP 1356818A2	Div ex	1996EP-0938062	November 4, 1996
EP 1356818A2	N/A	2003EP-0017188	November 4, 1996
EP 1356818A2	Div ex	EP 859628	N/A
DE 19541284A1	N/A	1995DE-1041284	November 6, 1995

WO 9717084A1	N/A	1996WO-EP04791	November 4, 1996
EP 859628A1	N/A	1996EP-0938062	November 4, 1996
EP 859628A1	N/A	1996WO-EP04791	November 4, 1996
EP 859628A1	Based on	WO 9717084	N/A
DE 19541284C2	N/A	1995DE-1041284	November 6, 1995
JP2000500124WN	N/A	1996WO-EP04791	November 4, 1996
JP2000500124WN	N/A	1997JP-0517831	November 4, 1996
JP2000500124W	Based on	WO 9717084	N/A
EP 859628B1	N/A	1996EP-0938062	November 4, 1996
EP 859628B1	N/A	1996WO-EP04791	November 4, 1996
EP 859628B1	Based on	WO 9717084	N/A
DE 59610633G	N/A	1996DE-0510633	November 4, 1996
DE 59610633G	N/A	1996EP-0938062	November 4, 1996
DE 59610633G	N/A	1996WO-EP04791	November 4, 1996
DE 59610633G	Based on	EP 859628	N/A
DE 59610633G	Based on	WO 9717084	N/A

**INT-CL** A61K031/685, A61K038/00 , A61K038/17 , A61K038/46 ,  
**(IPC):** A61K039/39 , A61K039/395 , A61K047/48 , A61K048/00 ,  
A61P007/06 , A61P031/00 , A61P031/12 , A61P033/06 ,  
A61P035/00 , A61P037/02

**ABSTRACTED-PUB-NO:** DE 19541284A

#### **BASIC-ABSTRACT:**

Modulation of phosphatidylserine (PS)-dependent phagocytosis (engulfment phagocytosis) comprises changing the level and/or distribution of annexin and/or modifying the active site and/or partner.

USE - Annexin V (Ia) is admin. to modulate the immune response, partic. in tumour therapy, tumour vaccines, treatment of viral infections (specifically HIV), treatment of sickle cell anaemia and malaria (or malaria immunisation). Blocking PS-dependent phagocytosis can also prevent cell loss during storage of blood prods. used e.g. to treat sickle cell anaemia (all claimed). (I) are admin. by injection or it is expressed as a fusion protein with a leader sequence, using a transient RNA vector system in blood cells.

ADVANTAGE - Blocking PS-dependent phagocytosis means that PS-carrying cells undergo phagocytosis by other pathways, leading to a far greater immune response, i.e. the treatment provides an adjuvant effect to increase immunogenicity of tumour vaccines, etc. In viral infections, apoptotic material taken into phagocytes causes a



respiratory burst that destroys the viral genome.

**CHOSEN-** Dwg.0/0

**DRAWING:**

**TITLE-** IMMUNO MODULATE CONTROL PHOSPHATIDYL SERINE DEPEND

**TERMS:** PHAGOCYTOSIS CHANGE LEVEL DISTRIBUTE TREAT TUMOUR VIRUS  
INFECT

**DERWENT-CLASS:** B04

**CPI-CODES:** B05-B01P; B14-A02; B14-H01B; B14-S11C;

**CHEMICAL-** Chemical Indexing M1 \*01\* Fragmentation Code M421 M423

**CODES:** M781 M903 P210 P312 P434 P633 P811 P812 V288 V752

**SECONDARY-ACC-NO:**

**CPI Secondary Accession Numbers:** C1996-082672